

学位論文題名

成熟家兎下顎骨骨空洞の治癒過程における
骨再生機序に関する病理組織学的研究

学位論文内容の要旨

顎顔面領域では、顎骨内に嚢胞あるいは良性腫瘍など様々な疾患が発症し、治療後に大きな骨空洞が生じることが多い。その大きさや部位によっては顎骨形態や口腔機能の障害を認めることが少なくないことから、様々な治療方法が試みられてきたが、顎骨骨空洞の治癒過程については十分に解明されていない。また、異所性の刺激を受けない外骨膜本来の場における成熟動物の外骨膜の骨形成能については、未だに明らかにされていない。そこで本研究では、下顎骨骨空洞の治癒過程における骨再生機序と外骨膜の果たす役割およびその骨形成能を明らかにすることを目的に、成熟家兎下顎骨に形成した骨空洞の修復過程を病理組織学的、組織計量的に検索した。

【材料および方法】実験動物には、月齢約18カ月で、体重約3kgの成熟した雄のニュージージーランドホワイト種家兎を用いた。

Pentobarbital Sodiumを用いて鎮静させた後塩酸リドカインを用いて局所麻酔を行い、右下顎骨体頬側部に近遠心距離12mm、高さ9mm、深さ(平均3.5mm)は舌側皮質骨にまで及ぶ骨空洞を形成し、外骨膜ならびに同部周囲軟組織を縫合し閉鎖創とした。

骨芽細胞の動態を明らかにするために、屠殺1時間前に5-bromo-2'-deoxyuridine(以下、BrdUとする)を投与し、骨空洞形成後1時間から14日目までの間に屠殺した。摘出した下顎骨は固定・脱灰後、パラフィンに包埋し、厚さ5 μ mの連続切片を作成した。次いで、HE染色、AM染色ならびにBrdU免疫組織化学的染色を行い検索した。また、新生骨の形成過程を明らかにするために、屠殺4日前にoxytetracycline、2日前に³³Bis[N,Ndi(carboxymethyl) aminomethyl]

fluoresceinを注射し、骨空洞形成後7日目から30日目までの間に屠殺した後、厚さ50 μ mの非脱灰研磨標本を作製し、マイクロラジオグラフィと骨組織ラベリング法とを用いて検索した。

【結果】脱灰標本の経時的な所見：骨空洞形成後12時間目では、骨空洞内においては皮質骨面の一部にフィブリンの析出が認められ、骨空洞を被覆する外骨膜の一部がわずかに肥厚していた。骨空洞形成後5日目では、骨空洞内の血餅は吸収され、骨空洞中央部に限局する傾向が認められた。その周囲に肉芽組織の新生と皮質骨に連続した少量の新生骨の形成とが認められた。新生骨周囲の骨芽細胞の一部がBrdU陽性を示し、それを取り囲むように線維芽細胞様細胞が骨空洞内へ増殖していた。骨空洞を被覆する外骨膜では線維芽細胞様細胞が骨空洞側へ増殖していた。骨空洞形成後7日目では、歯槽側皮質骨切除部に皮質骨切除面と連続して、骨空洞を被覆する外骨膜の内側面に沿って新生骨が形成され、同部の新生骨梁の先端部と骨空洞を被覆する外骨膜の内側面にBrdU陽性の骨芽細胞が多数認められた。骨空洞形成後9日目では、一部の家兎において、肥厚した外骨膜内に骨芽細胞が集積した部位と周囲を骨芽細胞で囲まれた類球形の新生骨の形成とが認められ、これらの骨芽細胞の多くはBrdU陽性を示した。骨空洞形成後14日目では、骨空洞中央部において新生骨梁の先端部が外骨膜の内側面に接するまで新生骨が形成され、同部には少数のBrdU陽性の骨芽細胞が認められた。一方、歯槽側皮質骨切除部の新生骨梁先端部には引き続き多数認められ、新生骨が外骨膜内側面に沿って形成されていた。

マイクロラジオグラムと蛍光像の所見：骨空洞形成後7日目では、骨空洞内の皮質骨面と連続した索状の新生骨が形成され、その多くは類骨組織であった。また、新生骨を要とする放射状の血管陰影も認められた。骨空洞形成後11日目では、骨空洞内の新生骨の多くがラベルされていた。骨空洞形成後15日目では、一部の家兎において、肥厚した外骨膜内に扁平な新生骨が認められた。骨空洞内においてはラベルされた新生骨の限局化と類骨組織の減少が認められた。骨空洞形成後23日目では、新生骨は骨空洞内をほぼ満たし、その多くは既存の骨組織と同じ緑色に染色され、ラベルされた新生骨は外骨膜に接した一部にのみ認められた。骨空洞形成後30日目では、下顎

骨は骨空洞形成前の形態にほぼ修復され、骨空洞中央部は骨改造が行われ骨髓様の構造として認められた。

組織計量の結果：BrdU陽性の骨芽細胞数は、骨空洞中央部の新生骨梁先端部においては、骨空洞形成後5日目から7日目まで上昇し、12日目に減少に転じ、14日目ではほぼ消失した。一方、骨空洞内の歯槽側皮質骨切除部においては、骨空洞形成後7日目に高値を示し、14日目にも高い値を保っていた。骨空洞内のラベルされた新生骨量は、骨空洞形成後7日目から比較的急速に増加し、11日目に最大値を示した後、減少した。

【考察】本研究では、成熟家兎の下顎骨骨空洞の治癒過程における骨再生機序ならびに外骨膜の果たす役割とその骨形成能を明らかにするために、形成可能な最大限の大きさと考えられる骨空洞を下顎骨に形成し、その修復過程を検索した。

骨空洞内の骨修復過程は、骨空洞内の舌側皮質骨削除面の一部に肉芽組織が形成され線維芽細胞様細胞が増殖した後、比較的急速に骨形成が行われた。このことは、骨空洞内の骨修復は、複雑な形態ゆえに骨空洞形成時に骨削除を免れ一部残存した舌側皮質骨骨髓側の内骨膜から始まることと、骨空洞内に骨形成の場が準備されるまでにはある程度の時間を必要とし、一度その場が確保されると比較的急速に新生骨の形成が行われることを示しているものと思われる。骨空洞形成後14日目頃には、骨空洞中央部において肥厚した外骨膜の内側面に接するまで新生骨が形成され、同部のBrdU陽性の骨芽細胞数は減少していた。この減少は、骨空洞形成後14日目以降における同部の新生骨形成の減弱と関連しているものと考えられた。一方、皮質骨切除部の歯槽側および下縁側断端部においては、骨空洞形成後14日目においても多数のBrdU陽性の骨芽細胞が引き続き認められ、新生骨の形成が活発に行われていた。以上の所見は、骨空洞を被覆する外骨膜が、骨芽細胞の増殖と新生骨形成を誘導していることを示すものと考えられた。また、一部の家兎においては、骨空洞を被覆する外骨膜の骨形成能を示唆する所見が得られた。これらのことから、骨空洞を被覆する外骨膜は下顎骨の形態の回復と皮質骨の形成とに重要な役割を演じていると考えられた。

【結論】

1. 骨空洞内では、器質化が進み、肉芽組織により骨新生の場が確保された後比較的急速に新生骨が形成された。その後、新生骨が更に形成され、皮質骨切除部の歯槽側と下縁側の内・外骨膜由来の新生骨と互いに癒合し、最後に骨改造により皮質骨が形成された。
2. 一部の家兎において、骨空洞を被覆する肥厚した外骨膜内において骨芽細胞の集積と類球形の新生骨の形成が認められ、外骨膜の骨形成能を示唆する所見が得られた。
3. 骨空洞を被覆する外骨膜は、外側軟組織の骨空洞内への侵入を防ぎ、皮質骨切除部の新生骨形成を外骨膜の内側面に沿って誘導し、下顎骨の形態の回復と皮質骨の形成とに重要な役割を果たしていた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 戸 塚 靖 則

副 査 教 授 雨 宮 璋

副 査 教 授 脇 田 稔

学 位 論 文 題 名

成熟家兎下顎骨骨空洞の治癒過程における

骨再生機序に関する病理組織学的研究

審査は、雨宮、脇田および戸塚審査員の出席のもとに、申請者に対し口頭試問により、提出論文の内容とそれに関連した学科目につき行われた。

顎骨骨空洞の治癒過程については、未だに十分には明らかにされていない。本研究は、下顎骨骨空洞の治癒過程における骨再生機序と外骨膜の果たす役割を明らかにすることを目的に、成熟家兎下顎骨に形成した骨空洞の修復過程を組織学的、免疫組織化学的ならびに組織計量的に検索したものである。

本実験では、骨空洞形成後1時間から14日目までの期間に、屠殺1時間前に5-bromo-2'-deoxyuridine(BrdU)を投与し、HE染色、AM染色ならびにBrdU免疫組織化学的染色を行い、骨芽細胞の動態の検索を行っている。また、骨空洞形成後7日目から30日目までの期間において、屠殺4日前にoxytetracycline、2日前に33'Bis[N,Ndi(carboxymethyl) aminomethyl] fluoresceinを注射し、マイクロラジオグラフィーと骨組織ラベリング法とを用いて、新生骨の形成過程を検索している。

その結果、骨空洞形成後12時間目に、骨空洞内皮質骨面の一部にフィブリンの析出と骨空洞を被覆する外骨膜の一部にわずかな肥厚を認め、また5日目に、骨空洞中央部に限局した血餅周囲に肉芽組織の新生と皮質骨に連続した少量の新生骨形成とを認めている。新生骨周囲の骨芽細胞は一部がBrdU陽性を示し、それを取り囲むように線維芽細胞様細胞が骨空洞内へ増殖している。一方、骨空洞を被覆する外骨膜では、7日目に骨空洞を被覆する外骨膜の内側面に沿い、かつ皮質骨切除面と連続した新生骨の形成を認め、さらに同9日目には、一部の家兎において、肥厚した外骨膜内に多くのBrdU陽性の骨芽細胞の集積と周囲を骨芽細胞で囲まれた類球形の新生骨の形成とを認めている。同14日目には、骨空洞は新生

骨梁によりほぼ満たされ、BrdU陽性の骨芽細胞はほぼ消失しているが、歯槽側皮質骨切除部では引き続き新生骨の形成を認めている。

マイクロラジオグラムと蛍光像の所見では、骨空洞形成後7日目に、骨空洞内の皮質骨面に類骨組織からなる索状の新生骨の形成を認めている。同11日目では、骨空洞内の新生骨の多くがラベルされているが、15日目においてはラベルされた新生骨は限局化しており、また一部の家兎において、肥厚した外骨膜内に扁平な新生骨を認めている。同23日目では、骨空洞は既存の骨組織と同様に緑色に染色された新生骨でほぼ満たされ、外骨膜に接した一部にのみラベルされた新生骨を認めている。同30日目では、下顎骨はほぼ骨空洞形成前の形態に修復され、また骨空洞中央部は骨改造が行われて骨髄様の構造を示している。

組織計量では、BrdU陽性の骨芽細胞数は、骨空洞中央部の新生骨梁先端部では、骨空洞形成後5日目から7日目まで上昇したのち、12日目に減少に転じ、14日目ではほぼ消失し、一方骨空洞内の歯槽側皮質骨切除部においては、同7日目に高値を示し、さらに14日目においても高値を保っていることを示した。また骨空洞内のラベルされた新生骨量は、同7日目から比較的急速に増加し、11日目に最大値を示した後に減少していることを示した。

本実験において、骨空洞内の舌側皮質骨削除面の一部に肉芽組織が形成され、次いで増殖した線維芽細胞様細胞がBrdU陽性の骨芽細胞へと分化し、その後比較的急速に骨形成ならびに骨改造が行われていたことから、骨空洞内の修復は骨空洞形成時に削除を免れ一部残存した舌側皮質骨骨髄側の内骨膜から始まり、しかもそれが骨空洞内の修復の大部分を担っていることを示しているものと考察している。一方、皮質骨切除部においては、骨空洞が舌側皮質骨削除面からの新生骨によってほぼ満たされた後にも、継続して新生骨が形成されていたことに関しては、一部の家兎において骨空洞を被覆する外骨膜に骨形成能を示唆する所見が得られたこととともに、骨空洞を被覆する外骨膜は骨空洞の修復、特に下顎骨の形態の回復に重要な役割を演じていることを示しているものと考察している。

論文の審査にあたって、論文提出者による要旨の説明後、主査および副査より質問がなされたが、いずれの質問についても明解な回答が得られた。本研究は、顎骨骨空洞の治癒過程における骨再生の機序を骨芽細胞の動態と新生骨の形成過程とから明らかにしたことと、成熟家兎下顎骨外骨膜が骨形成能を有することを示唆する所見を得たこと、ならびに顎骨骨空洞の治癒過程における外骨膜の役割を明らかに示したことが高く評価された。本研究の業績は、口腔外科の分野はもとより、関連領域にも寄与するところ大であり、博士(歯学)の学位授与に値するものと認められた。